

## ヒト成長ホルモンの膵内分泌, 消化管グルカゴン, ソマトスタチン分泌および肝インスリン 取込みに与える影響

金沢大学医学部内科学第二講座 (主任: 竹田亮祐教授)

皆 川 冬 樹

成長ホルモン (growth hormone, GH) の膵ホルモン分泌および膵外のグルカゴン (immunoreactive glucagon, IRG), ソマトスタチン (somatostatin-like immunoreactivity, SLI) 分泌に与える影響と, 肝インスリン取込みに及ぼす影響を検討した。麻酔イヌに対し, 遺伝子組替えによるヒト GH の膵動脈内投与 (700 または 35  $\mu$ g/10分間), 大腿静脈内投与 (700  $\mu$ g/10分間) を行ない, 膵静脈血および大腿動脈血中インスリン (immunoreactive insulin, IRI), IRG, SLI 濃度を検討した。さらに大腿静脈内投与群では短胃静脈血, 右胃大網静脈血中 IRG, SLI 濃度も検討した。その結果, ヒト GH 35  $\mu$ g 膵動脈内注入により, 血糖は前値 100  $\pm$  3 mg/dl より注入開始後10分で 104  $\pm$  3 へと有意の上昇をみ, 膵静脈血 IRI, IRG, SLI 濃度は5分以内にそれぞれ1.4倍, 1.4倍, 1.5倍へと速やかに上昇した。しかし大腿動脈血 IRI 濃度は15分以後むしろ有意の低下を示した。GH 700  $\mu$ g 膵動脈内注入により, 血糖は前値 105  $\pm$  4 mg/dl より注入開始後10分で 101  $\pm$  4 へと有意に低下し, 膵動脈血 IRI, IRG, SLI 濃度は5分以内にそれぞれ前値の2倍, 2倍, 1.4倍へと速やかに上昇した。IRI 濃度は大腿動脈血において7.5分以後やはり有意の低下を示した。GH 700  $\mu$ g の大腿静脈内投与では, 血糖は不変で膵静脈血 IRI, IRG, SLI 濃度は速やかな増加を示した。大腿動脈血 IRI 濃度は7.5分以後有意に低下した。この時, 血中 GH 濃度は注入後10分で 64  $\pm$  3 ng/ml と生理的変動の範囲に近いレベルであった。膵静脈血流量はヒト GH 700, 35  $\mu$ g 膵動脈内投与, 700  $\mu$ g 大腿静脈内投与のいずれの群においても有意の変化を認めなかった。各ホルモンの前値からの増加度 ( $\Delta$ IRI,  $\Delta$ IRG,  $\Delta$ SLI) を検討すると, 膵静脈血においては  $\Delta$ IRI,  $\Delta$ IRG,  $\Delta$ SLI は GH 700  $\mu$ g 膵動脈内注入で他群に比し有意に大きかった。大腿動脈血においては GH 全身投与群の  $\Delta$ SLI が他群に比し大であった。一方, GH 700  $\mu$ g 大腿静脈内投与により短胃静脈血一動脈血 SLI 濃度較差は前値 411  $\pm$  127 pg/ml から5分後に 532  $\pm$  158, 25分後に 695  $\pm$  160 へと有意の上昇を認めた。右胃大網静脈血一動脈血 SLI 濃度較差は変動を示さなかった。短胃静脈血および胃大網静脈血一大腿動脈血 IRG 濃度較差はいずれも有意の変動を認めなかった。GH の肝インスリン取込みに及ぼす影響を検討する目的で, 内因性インスリン分泌を除外し人工膵臓による血糖制御下にインスリン 400  $\mu$ U/kg  $\cdot$  min を門脈内に投与した。さらにヒト GH 4  $\mu$ g/kg  $\cdot$  20min または生理的食塩水を門脈内に投与し門脈, 肝動脈, 肝静脈の各血流量および各血中 IRI 濃度から肝インスリン取込み率を求めた。GH 門脈内投与群では前値47%から投与後63%と増加傾向をみたが対照群に比し有意の上昇ではなかった。以上の結果は, GH が膵からの IRI, IRG, SLI 分泌を刺激するのみならず胃底部 D 細胞からの SLI 分泌をも刺激すること, さらに肝におけるインスリン取込みを増加させる傾向があることを示し, GH が膵ホルモンおよび消化管 SLI を介して栄養素代謝に関与することを示唆する。

**Key words** growth hormone, insulin, glucagon, somatostatin, hepatic insulin extraction

成長ホルモン (growth hormone, GH) が糖代謝に与える影響については, 糖尿病の病因論とも関連し, 従来末梢組織での糖取込みや肝での糖放出などの観点から注目されてきた<sup>1)2)</sup>。一方, GH の膵内分泌に対する直接効果についても, 末端肥大病における糖尿病の合併<sup>3)</sup>, 血中 GH 変動が糖尿病患者のコントロールに与える影響<sup>4)5)</sup>あるいは夜明けの血糖上昇現象 (dawn phenomenon) を惹起する<sup>7)10)</sup>などの観点から注目されてきたが, 必ずしも一定の見解は得られていない。その理由としては, 第1に, 使用された GH の不均一性がある。すなわち, 初期の検討ではブタ<sup>11)</sup>, ウシ<sup>12)10)</sup> GH あるいは下垂体抽出ヒト

GH<sup>15)17)24)</sup>などを用いており種差, 不純物の混入などが同一条件下での検討を妨げていた。第2に, GH の投与方法の問題がある。GH は律動的な分泌動態を示すことが知られており<sup>25)26)</sup>, 生理的な分泌動態に近い血中 GH 濃度を得るような投与方法が望ましい。この点で高い血中 GH 濃度が持続するかあるいは血中 GH 濃度が漸増するような投与方法を用いた報告では, 成績の意義が異なってくる。第3に, 末梢血中の膵ホルモン濃度が必ずしも膵からのホルモン放出量を反映していない可能性がある。生体内ではない実験系において GH はラット灌流膵あるいは単離膵ランゲルハンス島に対しインスリン (immunoreactive

平成5年11月18日受付, 平成5年12月21日受理

Abbreviations: GH, growth hormone; HIE, hepatic insulin extraction; HII, hepatic insulin input; HIO, hepatic insulin output; IGF-I, insulin-like growth factor I; IRG, immunoreactive glucagon; IRI, immunoreactive insulin; SLI, somatostatin-like immunoreactivity

insulin, IRI), グルカゴン (immunoreactive glucagon, IRG) の放出を促進するという成績<sup>12)13)22)</sup>もあるが, 生体内での成績では末梢血中の IRI, IRG 濃度は不変<sup>18)23)24)27)</sup>, あるいは低下する<sup>5)28)29)</sup>という報告も多い. このような相反する成績をみる理由として, GH が肝での膵ホルモン取込みを変化させているため, 膵ホルモン放出量と末梢血中膵ホルモン濃度の変動の間に解離が生じるという可能性が考えられる. これらの点を考慮したうえで GH の膵ホルモンに対する作用は検討されるべきである.

一方, 視床下部ホルモンおよび膵ホルモンとして知られるソマトスタチンは, 胃腸粘膜にも膵 D 細胞と顆粒など組織学的に全く同じ D 細胞が存在し<sup>30)</sup>, 生物学的・生化学的にも同じソマトスタチンを産生することが知られており, このような事実は, 胃腸膵内分泌系統 (gastro-entero-pancreatic endocrine system) の概念を形成する基盤の一つとなっている. 血中に存在するソマトスタチンはその殆ど全てが膵・消化管由来である<sup>31)</sup>が, その生理学的役割について, 主として消化管からの栄養素の血中移行の制御にあることが想定されている. すなわち胃 D 細胞の壁細胞に対する塩酸分泌抑制作用<sup>32)</sup>, 脂肪, 単糖類の経口投与後の血中移行の抑制<sup>33)34)</sup>などが知られている. この点, 我々の教室の Nakabayashi らは生理学的量のソマトスタチン門脈内注入が中性脂肪の吸収に影響を与えること<sup>35)</sup>, 膵または肝からの迷走神経求心性電気活動を増加させること<sup>36)37)</sup>などを示し, 膵および消化管から分泌されたソマトスタチン (somatostatin-like immunoreactivity, SLI) が生体の栄養素代謝に関与する一方で, 神経情報として中枢神経系に入力され食欲, 食行動にも影響を与える可能性があると考えた. 一方, 消化管における D 細胞からの SLI 分泌調節については不明な点が多い. 胃-十二指腸内ブドウ糖または塩酸<sup>38)</sup>などの内腔刺激のみならず, 血中 IRG<sup>39)</sup>, ガンマアミノ酪酸 ( $\gamma$ -aminobutyric acid)<sup>40)</sup>, 迷走神経および内臓神経活動<sup>41)</sup>が消化管 SLI 分泌に影響を及ぼすことが知られている. さて, GH は視床下部の SLI 含有ニューロンからの SLI 分泌を刺激する<sup>42)</sup>. しかし血中 GH が膵および消化管 SLI 分泌にいかなる影響を及ぼすかについては, 報告が少ない. 我々の教室の吉光<sup>19)</sup>はウシ下垂体から抽出された GH を用い, これら膵外 SLI 分泌が GH により刺激されることを示し, GH の栄養素代謝に関する役割に言及している.

本研究では以上の点を考慮し, 近年入手が容易となった遺伝子組換えによる夾雑物のないヒト GH を用いた. そして, 薬理学的量または生理学的分泌量に近い量のヒト GH を全身または膵局所投与し, 膵 IRI, IRG, SLI のみならず膵外 IRG, SLI に対する GH の直接作用を検討した. さらに GH 投与が肝でのインスリン取込みに与える影響についても検討した. その結果, GH が膵 IRI, IRG, SLI 分泌および膵外, 特に胃底・体部からの SLI 分泌を刺激する成績を得た. さらにこのとき末梢動脈血中のインスリン濃度が低下する事実注目し直接法を用い検討したところ, 生理学的濃度の GH が肝でのインスリン取込みを促進する可能性を示す成績を得た. これらの成績は, GH が膵, 消化管からの SLI 分泌促進作用を示すとともに, この際分泌された SLI が消化管への作用を発揮し栄養素代謝へ寄与するという, 新しい側面を提示するものと思われる. ここに報告する.

#### 対象および方法

##### I. 膵および胃からのホルモン分泌に関する実験

体重 17-25kg の雑種成熟イヌを用いて, 一夜 12-16 時間絶

食後, ペントバルビタール (30mg/kg) 静脈内投与による麻酔下を開腹した. Kanazawa らの方法<sup>43)</sup>に準じ, 既報<sup>44)</sup>のごとく生体内局所の上脘十二指腸動脈循環システムを作製した. その概要は次のごとくである. 上脘十二指腸動脈の十二指腸への小分枝内へ GH 注入用にカテーテルを挿入し, その先端を同動脈本幹直前に設置した. 同時に上脘十二指腸静脈本幹の膵側および門脈側に設置したカテーテルをコネクターにて接合し, この部を体外におき, 腹壁を閉じた. この接合部をはずすことにより膵静脈血の採取と, その採取に要した時間による膵静脈血流量測定とを同時に行なった. さらに胃底部および胃前庭部からの SLI, IRG 分泌を検討する目的で, それぞれ短胃静脈, 右胃大網静脈内に血液採取用のカニューレを挿入・設置した. また大腿動脈にもそれぞれ採血用, GH 注入用のカテーテルを挿入・設置した.

GH として住友製薬 (大阪) 提供の遺伝子組換え法によるヒト成長ホルモン ( $N^1$ -L-methionyl growth hormone human, Somatonorm<sup>®</sup>: 2.3IU/mg) を使用し, 4.0IU を蒸留水 2.0ml で溶解した後, さらに生理的食塩水にて 1.62IU (700 $\mu$ g)/10ml または 0.081IU (35 $\mu$ g)/10ml の濃度に希釈した. GH は上脘十二指腸動脈または大腿静脈内に設置したカテーテルより, 持続注入ポンプを用いて 10 分間にわたり 1ml/min の速度で注入した. 対照群には生理的食塩水のみを注入した. 採血は -2, -1, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7.5, 10, 15, 20, 25, 30 分 (0-10 分 GH 注入) に膵静脈, 大腿動脈, 短胃静脈および右胃大網静脈より各 4ml 実施し, 同時に膵静脈血流量を測定した. ただし短胃静脈, 右胃大網静脈については 1, 2, 3, 4, 7.5 分の採血は除外した.

各血管系から採取された血液は直ちに血液 1ml あたりにアプロチニン (Bayer, Leverkusen, Germany) 1000 単位とエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム (ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt, EDTA2Na, 和光純薬工業, 大阪) 1.2mg を含む氷冷試験管に移し, 冷却遠心を行ない, 血漿を分離した. この血漿はホルモン測定まで -20°C で保存した. 血中 IRI 濃度はイヌ・インスリン標準品 (Lot NoH7574, L. Heding 博士より提供, Novo, Copenhagen, Denmark) を用いる<sup>45)</sup>, 血中 IRG 濃度は抗体 30K (R. H. Unger 博士より提供, Texas 大学, U.S.A.) を用いる<sup>46)47)</sup>, それぞれ既報のラジオイムノアッセイ法で測定した. 血中 SLI 濃度は血漿を 30% ポリエチレングリコール 6000 (和光純薬工業) にて抽出後, Conlon らの方法<sup>48)</sup>に準じて抗体 80C (R. H. Unger 博士より提供) を用いる, 既報のラジオイムノアッセイ法で測定した. 血漿グルコース濃度はグルコースオキシダーゼ法, 血中 GH 濃度は市販のラジオイムノアッセイキット (Ab ビーズ hGH, 薬研器材, 東京) により測定した.

##### II. 肝におけるインスリン取込みに関する検討

体重 12-17kg の雑種成熟イヌを用いて, 一夜 12-16 時間絶食後, ペントバルビタール静脈麻酔下を開腹し, 大腿静脈を穿刺し, 採血用のカテーテルを肝静脈本幹まで挿入, 設置した. 肝静脈本幹内カテーテル先端の位置は少量のヨード造影剤を用いて X 線透視下を確認した. さらに回腸静脈の分枝にカテーテルを 2 本挿入し, 下腸間膜静脈を経由し, 1 本は採血用として肝門部より 2 横指遠位の門脈内に, もう 1 本はインスリン注入用に上腸間膜静脈と上脘十二指腸静脈の合流部より 3 横指遠位の位置に, それぞれ設置した (図 1). また大腿動脈内にそれぞれ採血用, GH 注入用のカテーテルを留置した.

次に上および下腔十二指腸動静脈, および脾動静脈より脾に流入する血管を全て結紮し内因性インスリン分泌を除外した。同時に門脈内に設置したカテーテルよりヒトインスリン (Insulin Novo actrapid human<sup>®</sup>, Novo) を, 0.5% ウシ血清アルブミン (SIGMA, St. Louis, U.S.A.) 加生理的食塩水で 400 $\mu$ U/ml に希釈した後, 1ml/min で注入した。さらに, このインスリン注入中の血糖値を一定に保つため, 橈骨皮静脈にグルコースセンサー用およびグルコース注入用カニューレを挿入し, 人工脾臓 (Nikkiso Model STG-22, 日機装社, 東京) を装着した。また, 固有肝動脈および門脈にプローブをかけ, 超音波血流計 (T-201, Transonic System, New York, U.S.A.) にて血流を測定した。GH は上述のヒト GH 4 $\mu$ g/kg を生理的食塩水 20ml に溶解し, 20分間で大腿静脈より持続注入ポンプを用いて 1ml/min で定速注入した。対照群には生理的食塩水のみを注入した。採血は, -30, -15, -1, 0, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90分 (0-20分 GH 注入) に, 門脈, 肝静脈, 大腿動脈より各 4ml 実施し, 同時に固有肝動脈, 門脈の血流量を測定した。

採取された血液は I. と同様に処理し, 血漿グルコース濃度, 血中 IRI 濃度, 血中 GH 濃度を前述の方法で測定した。

肝へのインスリン流入量 (hepatic insulin input, HII), 肝からのインスリン流出量 (hepatic insulin output, HIO), 肝でのインスリン取込み (hepatic insulin extraction, HIE) は次式より求めた。

$$\text{HII } (\mu\text{U}/\text{min}) = [\text{門脈血 IRI 濃度} \times \text{門脈血流量} \times (1 - \text{ヘマトクリット})] + [\text{大腿動脈血 IRI 濃度} \times \text{肝動脈血流量} \times (1 - \text{ヘマトクリット})]$$

$$\text{HIO } (\mu\text{U}/\text{min}) = \text{肝静脈血 IRI 濃度} \times (\text{門脈血流量} + \text{固有肝動脈血流量}) \times (1 - \text{ヘマトクリット})$$

$$\text{HIE } (\%) = (\text{HII} - \text{HIO}) / \text{HII}$$

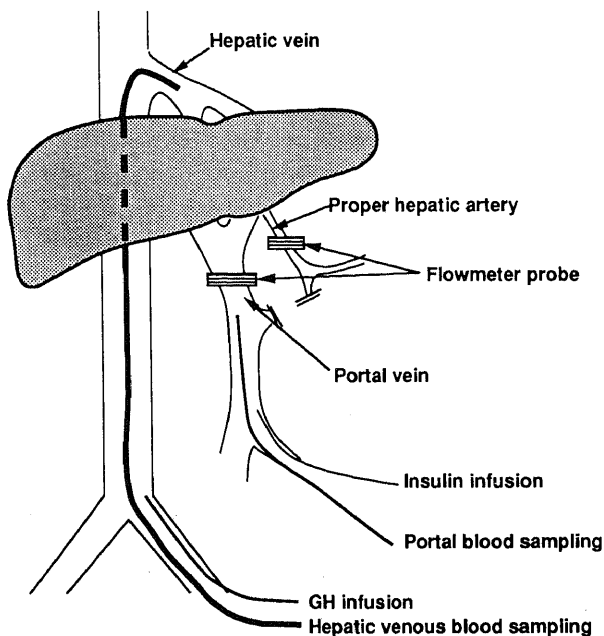


Fig. 1. Schematic illustration of the placement of the probe of ultrasonic flowmeter, the catheters for human growth hormone or insulin infusion, and for blood sampling.

### III. 統計学的検定

得られた成績はすべて平均値 $\pm$ 標準偏差 (SEM) で表した。2群間の平均値の差の検定には対応あるまたは対応のない t-検定を行ない, 3群間以上の平均値の差の検定には, 一元配置分散分析ののち, Scheffe の多重比較を行なった。P<0.05 を有意とした。

### 成 績

#### 1. GH (35 $\mu$ g/10min) 脾動脈内注入時の血糖, IRI, IRG, SLI, GH 濃度の変動

GH 35 $\mu$ g を脾局所に直接注入すると (n=8, 図 2), 大腿動脈血血糖は前値平均 100 $\pm$ 3mg/dl より GH 注入後 7.5, 10 分でも 104 $\pm$ 3mg/dl とわずかに有意に上昇し, 25分まで持続した。脾静脈血中 IRI 濃度は前値平均 234 $\pm$ 25 $\mu$ U/ml より注入後 1 分で 334 $\pm$ 55 $\mu$ U/ml へと有意に上昇した後, 注入後 10 分で再び上昇し, その後も高値傾向を維持した。大腿動脈血 IRI 濃度も同様に, 早期に上昇傾向を示したが, しかし 15 分以後前値より有意に低下した。脾静脈血中 IRG 濃度は前値平均

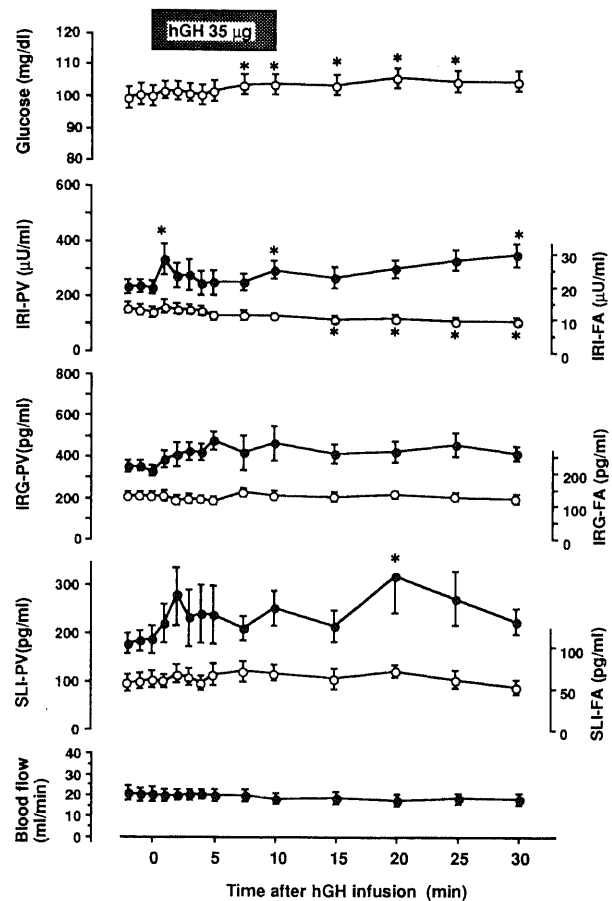


Fig. 2. Effect of recombinant human growth hormone (hGH) infusion (35  $\mu$ g for 10 min) into the pancreatic artery on arterial (-FA, ○) and pancreatic venous (-PV, ●) blood glucose, insulin (IRI), glucagon (IRG), somatostatin (SLI) concentrations and on pancreatic venous blood flow in dogs (n=10). Each point with vertical bar represents the mean $\pm$ SEM. Astarisks represent significant differences from the mean values just before growth hormone administration (p<0.05 or less).

347±25pg/ml から次第に上昇し、GH 注入後 5 分に頂値 478±44pg/ml に達した後、高値傾向を持続した。膵静脈血中 SLI 濃度は前値平均 183±23pg/ml から、GH 注入後 2 分で 279±68pg/ml へと上昇傾向をみ、20 分で頂値 319±78pg/ml と有意の上昇を認めた。大腿動脈血 SLI 濃度は 7.5 分以後やや上昇する傾向を示した。膵動脈血流は前値平均 21±3ml/min から有意の変動を認めなかった。この量の GH 注入により、動脈血中の GH 濃度は前値測定感度以下から GH 注入開始後次第に上昇し GH 注入後 10 分で頂値 9.5±1.2ng/ml に達し、以後漸減し、GH 注入後、20、30 分でそれぞれ 4.9±0.9、3.3±0.7ng/ml と生理的濃度の範囲となった。

## II. GH (700μg/10min) 膵動脈内注入時の血糖、IRI, IRG, SLI 濃度の変動

GH 700μg を膵局所に直接注入すると (n=10, 図 3), 大腿動脈血血糖は前値平均 105±4mg/dl より GH 注入後 10 分で 101±4mg/dl と低下した。膵静脈血中 IRI 濃度は前値平均 256±29μU/ml より注入後 1 分で 507±68μU/ml へと有意に上昇したが次第に低下し、注入後 15 分では前値より有意に低下した。大腿動脈血 IRI 濃度も同様に、早期に上昇傾向を示したが、7.5 分以後有意に低下した。膵静脈血中 IRG 濃度は前値平

均 335±24pg/ml から注入開始 1 分より上昇し、3、10 分にそれぞれ頂値 670±75、666±51pg/ml をもつ二峰性の上昇を示した。大腿動脈血 IRG 濃度も 7.5、10 分で有意に上昇した。膵静脈血中 SLI 濃度は前値平均 200±17pg/ml から、GH 注入後 2 分で頂値 272±5pg/ml へと有意に上昇し、30 分まで高値を持続した。大腿動脈血 SLI 濃度は 7.5 分以後上昇傾向を示した。膵静脈血流は前値平均 21.8±1.6ml/min から有意の変動を示さなかった。

膵動脈内に生理的食塩水を注入した対照群では血糖、IRI, IRG, SLI, 膵静脈血流のいずれも有意の変動を認めなかった。

## III. GH (700μg/10min) 大腿静脈内注入時の血糖、IRI, IRG, SLI 変動

### 1. 膵ホルモン変動

GH700μg を全身投与すると (n=6, 図 4), 動脈血血糖は有意の変動を示さなかった。膵静脈血中 IRI 濃度は前値平均 217±26μU/ml より注入後 1 分で 243±29μU/ml と有意の上昇を示したが、大腿動脈血 IRI 濃度は 7.5 分以後有意に低下した。膵静脈血 IRG 濃度は前値平均 351±37pg/ml から GH 注入後 1 分で有意に上昇し、20 分まで高値を持続した。大腿動脈血 IRG 濃度も同様の傾向を示した。膵静脈血中 SLI 濃度は前値平

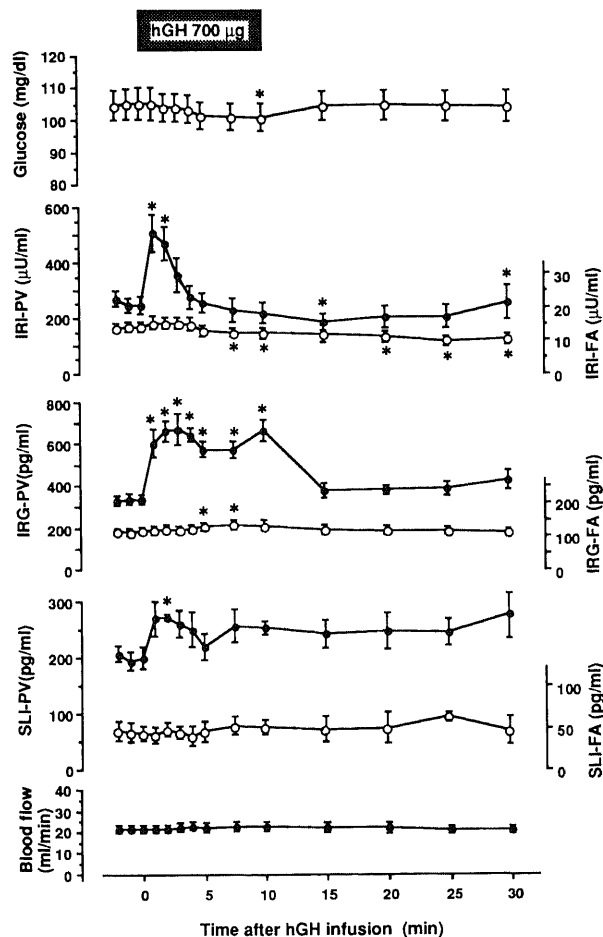


Fig. 3. Effect of recombinant human growth hormone (hGH) infusion (700 μg for 10 min) into the pancreatic artery on arterial (-FA, ○) and pancreatic venous (-PV, ●) blood glucose, insulin (IRI), glucagon (IRG), somatostatin (SLI) concentrations and on pancreatic venous blood flow in dogs (n=8). As to symbols, refer to Fig. 2.

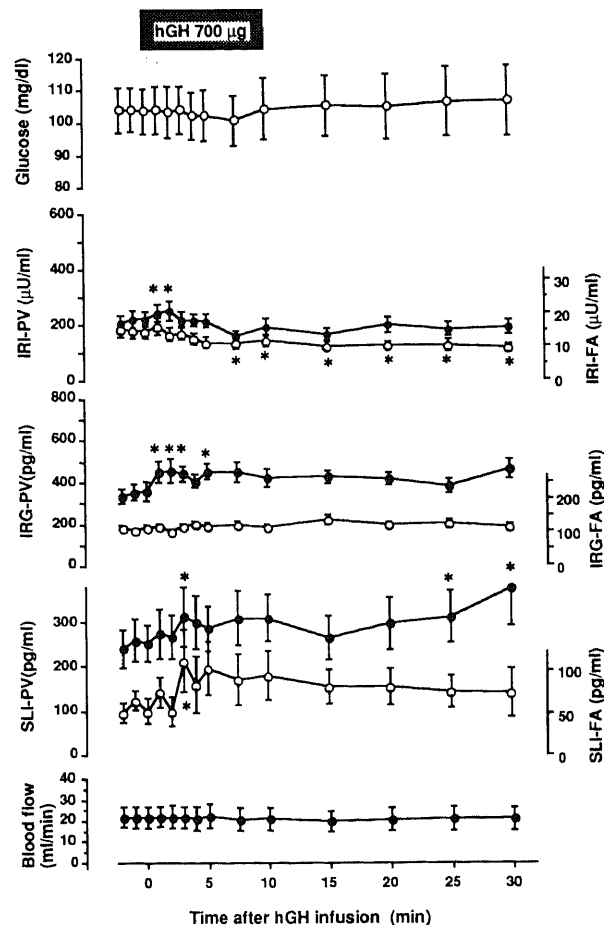


Fig. 4. Effect of recombinant human growth hormone (hGH) infusion (700 μg for 10 min) into the femoral vein on arterial (-FA, ○) and pancreatic venous (-PV, ●) blood glucose, insulin (IRI), glucagon (IRG), somatostatin (SLI) concentrations and on pancreatic venous blood flow in dogs (n=6). As to symbols, refer to Fig. 2.

均  $251 \pm 43 \text{ pg/ml}$  から 3 分には  $313 \pm 68 \text{ pg/ml}$  へと有意に上昇し、その後も 30 分の頂値  $378 \pm 88 \text{ pg/ml}$  へと次第に増加した。大腿動脈血 SLI 濃度も同様に漸増した。大腿静脈内に生理的食塩水を注入した対照群では血糖、IRI, IRG, SLI, 腓静脈血流のいずれも有意の変動を認めなかった。

## 2. 腓および腓外 SLI, IRG 変動

GH700 $\mu\text{g}$  全身投与時の腓静脈, 短胃静脈, 右胃大網静脈血と大腿動脈血との間の SLI, IRG 濃度較差を求めた (図 5)。その結果, 腓静脈血における SLI 濃度較差は前値平均  $161 \pm 32 \text{ pg/ml}$  から GH 注入開始後次第に増加し, 25 分には有意の頂値  $293 \pm 74 \text{ pg/ml}$  に達した。短胃静脈血における SLI 濃度較差は前値平均  $411 \pm 127 \text{ pg/ml}$  から 5, 25 分にそれぞれ頂値  $532 \pm 158, 695 \pm 160 \text{ pg/ml}$  を示す二峰性の有意の上昇を示した。しかし右胃大網静脈血における SLI 濃度較差は有意の変動を示さなかった。一方, IRI 濃度較差は腓静脈血において, 前値平均  $238 \pm 60 \text{ pg/ml}$  から 5 分で  $373 \pm 202 \text{ pg/ml}$  へと上昇したが, 短胃静脈血および右胃大網静脈血においてはいずれも全く変動しなかった。大腿静脈内に生理的食塩水を注入した対照群では腓外 IRI, SLI のいずれも有意の変動を認めなかった。

## 3. 動脈血中 GH 濃度変動

この量の GH 注入により, 動脈血中の GH 濃度は (図 6), 前

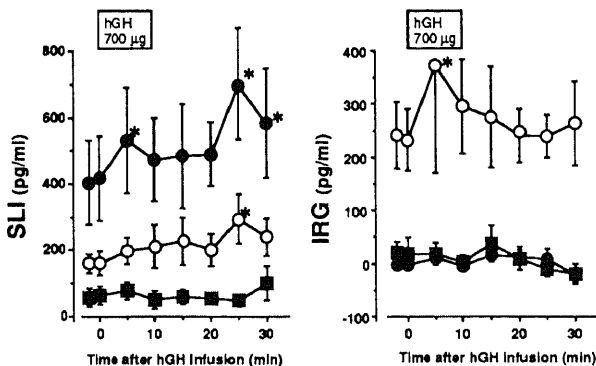


Fig. 5. Effect of human growth hormone (hGH) administration on trans-pancreatic and trans-gastric gradients of somatostatin (SLI) and glucagon (IRG) concentration in dogs ( $n=5$ ). Gradients between pancreatic vein (○), short gastric vein (●), gastroepiploic vein (■) and femoral artery. Each point with vertical bar represents the mean  $\pm$  SEM. Astarisks represent significant differences from the mean values just before growth hormone administration ( $p < 0.05$  or less).

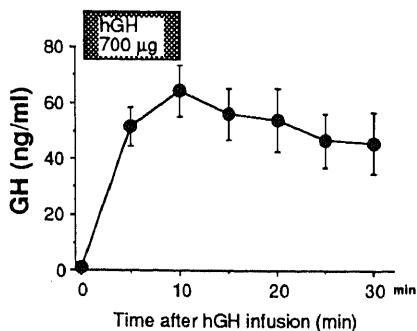


Fig. 6. Changes of serum growth hormone (GH) concentration during and after infusion of recombinant human GH (700  $\mu\text{g}/10 \text{ min}$ ) into the femoral artery ( $n=10$ ). Each point with vertical bar represents the mean  $\pm$  SEM.

値  $1.5 \text{ ng/ml}$  以下から GH 注入開始後 10 分で頂値  $64 \pm 3 \text{ ng/ml}$  に達し, 以後漸減し, GH 注入後 30 分で  $46 \pm 3 \text{ ng/ml}$  となった。

## IV. GH (700 $\mu\text{g}/10 \text{ min}$ ) 腓動脈内投与群, GH (35 $\mu\text{g}/10 \text{ min}$ ) 腓動脈内投与群および GH (700 $\mu\text{g}/10 \text{ min}$ ) 大腿静脈内投与群における血糖, IRI, IRG, SLI 濃度の増加度の比較

血糖, IRI, IRG, SLI 濃度の変動を GH 投与前平均値からの増加度  $\Delta$  で示し, 各群の比較を行なった (図 7)。

### 1. 血糖の増加度の比較

$\Delta$ 血糖は, GH35 $\mu\text{g}$  腓動脈内投与群で上昇, GH700 $\mu\text{g}$  腓動脈内投与群では, 投与開始後次第に低下し, 両群間で 7.5, 10 分において有意の差を認めた。GH700 $\mu\text{g}$  大腿静脈内投与群では GH700 $\mu\text{g}$  腓動脈内投与群と同様に投与開始後次第に低下する傾向を示したが有意差は認めなかった。

### 2. IRI の増加度の比較

$\Delta$ 腓静脈血 IRI は, GH35 $\mu\text{g}$  腓動脈内投与群で, 投与開始後速やかに上昇した後前値に復し, 10 分以後次第に上昇した。GH700 $\mu\text{g}$  腓動脈内投与群では, 投与開始後速やかに上昇した後, 前値に復した。GH700 $\mu\text{g}$  大腿静脈内投与群では投与後 1, 2 分で速やかな上昇をみた。投与直後の増加は他群に比し GH700 $\mu\text{g}$  腓動脈内投与群において有意に大であった。一方,  $\Delta$ 大腿動脈血 IRI は, 3 群とも投与直後に上昇する傾向を示した後いずれも 5 分以内に前値を下回るあきらかな低値となった。その低下の程度は GH700 $\mu\text{g}$  大腿静脈内投与群で他の 2 群に比し有意に大きかった。

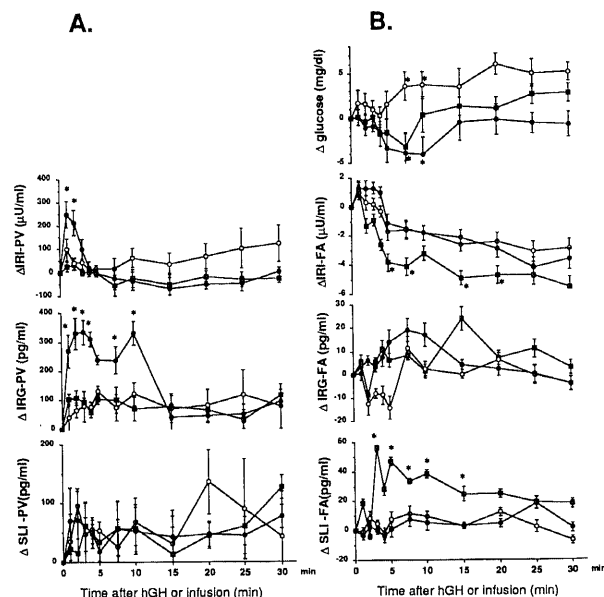


Fig. 7. Incremental changes of pancreatic venous (-PV) (A) and arterial (-FA) (B) blood glucose, insulin (IRI), glucagon (IRG) and somatostatin (SLI) concentrations during and after human growth hormone (hGH) infusion. hGH infused: ●, 700  $\mu\text{g}$  into the pancreatic artery ( $n=10$ ); ○, 35  $\mu\text{g}$  into the pancreatic artery ( $n=6$ ); ■, 700  $\mu\text{g}$  into the femoral vein ( $n=8$ ). Each point with vertical bar represents the mean  $\pm$  SEM. Astarisks represent significant differences from each values of 35  $\mu\text{g}$  hGH infusion ( $p < 0.05$  or less).

### 3. IRG の増加度の比較

△膵静脈血 IRG は、GH35 $\mu$ g 膵動脈内投与群では、投与開始後 3, 4, 5 分で上昇をみた。GH700 $\mu$ g 膵動脈内投与群では、投与開始後 3 分、10 分に頂値を持つ二峰性の上昇を認め、GH35 $\mu$ g 膵動脈内投与群に比しその増加度は有意に大きかった。GH700 $\mu$ g 大腿静脈内投与群は GH35 $\mu$ g 膵動脈内投与群とはほぼ同様の変動を示した。△大腿動脈血 IRG は、GH700 $\mu$ g 膵動脈内投与群で 5-10 分で上昇をみたが、その増加度は GH35 $\mu$ g 膵動脈内投与群および GH700 $\mu$ g 大腿静脈内投与群との間に差はなかった。

### 4. SLI の増加度の比較

△膵静脈血 SLI は、GH700 $\mu$ g および 35 $\mu$ g 膵動脈内投与群で、投与開始後速やかに上昇し、高値傾向が持続した。GH700 $\mu$ g 大腿静脈内投与群もほぼ同様の変動を示した。一方、△大腿動脈血 SLI は、GH700 $\mu$ g 大腿静脈内投与群で投与開始後 3 分より著明な上昇を示し、30 分まで高値を持続した。この増加は他群に比して有意に大きかった。

### V. GH (4 $\mu$ g/kg·20min) 大腿静脈内注入時の肝インスリン取込みの変化

人工膵臓による血糖制御下に、内因性インスリン分泌を除外した上で GH4 $\mu$ g/kg を 20 分間で門脈内に注入し、外因性に投与したインスリンの肝における取込み率の変化を対照群と比較した (図 8)。

#### 1. 血糖値の変動

大腿動脈血血糖値は GH 注入群 (n=6)、対照群 (n=4) でそれぞれ前値平均 79 $\pm$ 1, 89 $\pm$ 6mg/dl で両群間に差はなく、GH 注入開始後いずれも有意の変動を示さなかった。

#### 2. 血中 GH 濃度の変動

動脈血中 GH 濃度は GH 注入群において前値 0.2ng/ml 以下より GH 注入開始後 20 分で頂値 19 $\pm$ 4ng/ml と上昇した。対照群の GH 濃度は終始検出感度以下であった。

#### 3. 肝へのインスリン流入量および放出量の変動

HII は GH 注入群、対照群でそれぞれ前値平均 8448 $\pm$ 249, 8312 $\pm$ 260 $\mu$ U/min で両群間に有意の差はなく、GH 注入開始後も有意の変動を示さなかった。HIO は GH 注入群で減少する傾向をみたが両群とも有意の変動は示さなかった。

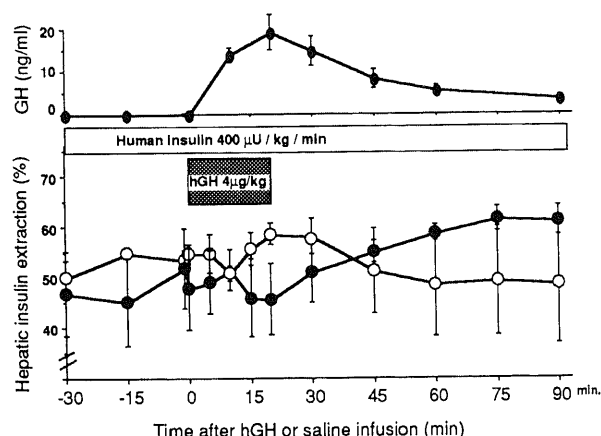


Fig. 8. Effect of human growth hormone (hGH, n=6) (●) or saline infusion (n=5) (○) on growth hormone concentration, and on hepatic insulin extraction. Each point with vertical bar represents the mean $\pm$ SEM.

### 4. 肝インスリン取込み率の変動

HIE は注入群、対照群でそれぞれ前値平均 47 $\pm$ 5, 53 $\pm$ 1% で両群間に有意の差をみなかった。GH 注入群では HIE は GH 注入開始後 75 分で 63% まで増加傾向を示した。しかしこの増加は対照群に比し有意の差を認めなかった。

## 考 察

今回著者が行なった実験成績は以下のごとく要約できる。

1) ヒト GH 35 $\mu$ g, 10 分間の膵動脈内注入は、血糖の上昇と膵静脈血 IRI, IRG, SLI 濃度の速やかな上昇を引き起こした。しかし大腿動脈血 IRI 濃度は 15 分以後有意の低下を示した。2) ヒト GH 700 $\mu$ g, 10 分間のイヌ膵動脈内注入は、血糖の低下と膵静脈血 IRI, IRG, SLI 濃度の速やかな上昇を惹起した。その増加の程度は GH 35 $\mu$ g 膵動脈内注入に比して大きかった。しかしその後 IRI 濃度はやはり大腿動脈血において有意の低下を示した。3) ヒト GH 700 $\mu$ g を 10 分間で大腿静脈内に注入すると、血中 GH 濃度は注入後 10 分で 64 $\pm$ 3ng/ml とヒトにおける GH の律動的分泌の際の頂値をやや上回るレベルとなった。この時、血糖は不変で GH 35 $\mu$ g 膵動脈内注入とほぼ同程度の膵静脈血 IRI, IRG, SLI 濃度の増加を示した。大腿動脈血 IRI 濃度は 7.5 分以後やはり有意に低下した。大腿動脈血 SLI 濃度の増加は他群に比し GH 全身投与において著明であった。一方、短胃静脈血-大腿動脈血 SLI 濃度較差は有意の上昇を認め、GH の胃底部 D 細胞に対する SLI 分泌刺激作用が示唆された。右胃大網静脈血-大腿動脈血 SLI 濃度較差は変動を示さなかった。短胃静脈血および胃大網静脈血-大腿動脈血 IRG 濃度較差はいずれも有意の変動を認めなかった。4) 膵静脈血流量はヒト GH 700, 35 $\mu$ g 膵動脈内投与, 700 $\mu$ g 大腿静脈内投与のいずれの群においても有意の変化を認めなかった。5) 人工膵臓による血糖制御下にヒト GH 4 $\mu$ g/kg を 20 分間で大腿静脈内に注入すると、HII, HIO は夫々有意の変動を示さなかったが、肝でのインスリン取込みを表す HIE は対照群に比し増加する傾向をみた。血中 GH 濃度は注入後 20 分で頂値 19 $\pm$ 4ng/ml でヒトにおける律動的分泌の範囲内であった。GH が糖代謝とりわけ膵内分泌に及ぼす影響を及ぼすかは興味あるテーマである。しかし生体を用いた実験系あるいは灌流膵、単離膵ランゲルハンス島を用いた実験系のいずれにおいても一致した成績は得られておらず、その理由として実験に用いた GH の不均一性、実験デザインの相違などが挙げられる。ラット灌流膵を用いた実験では Tai らおよび Pek ら<sup>12,13)</sup> がウシ GH の IRI, IRG 分泌刺激作用を報告している一方、ヒト GH ではこのような作用はみられないとする報告<sup>20)</sup> もある。このように従来の報告では用いられた GH 製剤がブタ GH<sup>11)</sup>、ウシ GH<sup>12-16)</sup>、下垂体抽出ヒト GH<sup>17-24)</sup>、遺伝子組換えヒト GH<sup>27,28)</sup> などまちまちであり、GH の種差による作用の相違あるいはまた初期の下垂体抽出 GH にみられた不純物の混入などが無視できない要因である。著者が今回の実験に用いた GH は大腸菌を用いた遺伝子組換え法により合成されたヒト GH であり、N 端にメチオニンが付加されているが、その物理化学的特性、生物学的および薬理学的作用、臨床効果は高純度下垂体抽出ヒト GH と相違ないことが示されている<sup>48)</sup>。従って、今回の成績は GH の純度の点では問題ないと考えられる。我々の教室の吉光<sup>16)</sup> はウシ GH のイヌ膵動脈内投与により、膵血流量の著しい減少を認め、このことが膵ホルモン放出量と血中濃度の解離に関与している可能性があると報告

している。今回著者は吉光らと同力価 (ウシ GH 2mg, ヒト GH 700 $\mu$ g はいずれも1.62国際単位相当) のヒト GH を用いて検討したにも関わらず脾血流量に有意の変化を認めなかったことは、GH の種差またはウシ下垂体抽出 GH 中の何らかの夾雑物による可能性がある。

また GH の投与方法も従来の研究成績を解釈するうえで注意すべき要点となる。例えば、皮下投与<sup>14)</sup>、静脈内 1 回投与<sup>23)27)28)50)</sup>、0.5–12 時間の持続投与<sup>41)71)82)</sup>、一定時間毎の間欠投与<sup>9)</sup>などまちまちであり、したがって GH が IRI, IRG 分泌刺激作用を示したとする成績においてもその効果発現時間には大変差がある。ヒトにおいて GH はストレス、睡眠等により 3–4 時間毎の律動的分泌をすることが知られている<sup>25)26)</sup>。そのピークでの血中 GH 濃度は成人で約 10–20ng/ml<sup>25)</sup>、思春期で約 30–50ng/ml にも達する<sup>26)</sup>が血中 GH の半減期は20分前後であり<sup>51)</sup>、血中 GH レベルは 1 時間前後で前値に復する。GH が糖代謝に与える影響を検討する際、このような血中 GH の生理的な変動を考慮にいれる必要がある。事実、Pal ら<sup>8)</sup>は 1 型糖尿病患者に対しインスリン投与による血糖拘束状況下で 3 時間毎の GH 間欠投与と同量の GH の持続投与を行ったところ、インスリン必要量に差を認めたと報告している。また GH はインスリン様成長因子 (insulinlike growth factor I, IGF-I) の肝での産生を刺激し、この IGF-I を介して糖代謝に種々の影響を及ぼす。したがって GH の直接作用を検討するには IGF-I の作用を除外する必要がある。GH 投与による血中 IGF-I 上昇が認められる 6–8 時間以内<sup>52)</sup>でなければならない。この点、著者の実験は明らかに GH の直接作用をみたことになる。

以上の点、特に投与量、血中 GH 濃度を考慮し、今回はヒト GH700 または 35 $\mu$ g 10 分間の臍動脈内注入および 700 $\mu$ g 10 分間の大腿静脈内注入を行ない臍ホルモン分泌動態および臍外 IRI, SLI 分泌を検討した。GH700 $\mu$ g 10 分間の大腿静脈内注入の際、血中 GH 濃度は注入後 10 分で頂値 64 $\pm$ 4ng/ml とヒト思春期の律動的分泌のピークをやや上回るレベルとなり、生理学的な条件下に近いと考えてよい。この状況では臍内分泌細胞および臍外 D 細胞の両者に対する直接効果を観察しようと考えられる。一方、GH35 $\mu$ g 10 分間の臍動脈内注入では末梢動脈血中の GH 濃度は注入後 10 分で頂値 10 $\pm$ 1ng/ml と全く生理的変動の範囲内であるが、実際の臍動脈血中 GH 濃度を投与量と臍血流量から試算すると約 167ng/ml となる。従ってこの量の GH 投与では臍内分泌細胞に対する直接作用が強く発揮され、臍外 D 細胞に対する効果は弱いものと考えられる。事実今回、ヒト GH により臍静脈血 IRI, IRG, SLI 濃度はいずれも上昇を認めたが、末梢動脈血 SLI 濃度の明らかな増加をみたのは GH700 $\mu$ g 大腿静脈内投与群においてのみであった。GH700 $\mu$ g 大腿静脈内投与の際、短胃静脈からの SLI 分泌増加をみたことからこの末梢動脈血における SLI 濃度の上昇は大部分が消化管壁 D 細胞に由来するものであると考えられる。しかし GH700 $\mu$ g 臍動脈内注入群では末梢動脈血中 GH 濃度も上昇してしかるべきであるにも拘わらず末梢動脈血中 SLI 濃度の上昇、すなわち臍外性 SLI 分泌の増加をみなかった。その理由として、臍動脈内に投与された GH が臍および肝で取込まれたか、もしくは変性を受けたため、同じ投与量でありながらこの群では末梢動脈血中の GH 濃度が全身投与群ほど上昇しなかった可能性がある。特に GH は肝細胞に対してブドウ糖放出<sup>53)</sup>、IRG 結合の増加<sup>54)</sup>、インスリン感受性の変化<sup>8)</sup>、などの直接作用

を持ち、肝細胞が GH レセプターを特に多く持つ<sup>55)</sup>ことが示されており、臍動脈内から大量に投与された GH が肝の初回通過において大部分取込まれたか、もしくは生物学的作用が減弱するような変性を受けたため、末梢動脈血中 GH 濃度が臍外 SLI 分泌を惹起するには充分でなかったと想定される。

ソマトスタチンは視床下部ニューロン以外に甲状腺傍小細胞、臍 D 細胞、消化管 D 細胞から分泌されるが、流血中に存在する SLI の大部分は後 2 者により産生されるものであることが知られている<sup>31)</sup>。消化管 D 細胞は大部分が胃・十二指腸に存在し、特に胃に多い。胃内の D 細胞の分布については免疫組織学的な検討が多くなされており<sup>56)–61)</sup>、動物種により相異があることが示されている。イヌにおいては胃底部に近い部と幽門洞付近に集中しており、幽門部 D 細胞数が胃体部 D 細胞数に比して約 2.7 倍多くみられる<sup>57)</sup>。Olesen ら<sup>41)</sup>はブタにおいて胃体・胃底部と前庭・幽門部の D 細胞が異なる神経性調節を受けていることを示した。さらに彼らは胃体・胃底部 D 細胞は胃酸分泌、前庭・幽門部 D 細胞はガストリン分泌調節に関与していると述べている。また Arimura ら<sup>32)</sup>も胃底部 D 細胞の役割について胃酸分泌に対し傍分泌調節を行なっていることを示した。今回の実験において短胃静脈血は胃体・胃底部、右胃大網静脈血は前庭・幽門部の血液の流入を受けていると考えてよく、GH 全身投与により胃体・胃底部と前庭・幽門部の D 細胞が異なる反応を呈する、即ち胃体・胃底部においてのみ SLI 分泌が惹起され、胃前庭・幽門部 D 細胞は GH に対する反応性を有しないことが示されたことは興味深い。このことは GH が胃体・胃底部ソマトスタチン分泌を介し胃酸分泌を制御することで栄養素の吸収に関与している可能性があることを示唆している。

臍 IRI 分泌は GH により刺激されることが示されたが、末梢動脈血 IRI 濃度は逆に GH 投与後 5 分以内に全ての群で前値を下回りその後有意の低値をとると興味深い事実が見出された。インスリンは臍から門脈内に放出され、肝での初回通過により約 40–50% が取込まれるとされており、GH がこの肝インスリン取込みに与える影響を検討した。すると有意ではなかったものの HIE で表される肝インスリン取込み率は対照群に比し増加する傾向を示した。先に述べたように GH は肝細胞にそのレセプターを豊富に持ち、肝でのインスリン感受性の変化をもたらすことが知られている<sup>8)</sup>。また末梢血における検討としては、夜明けの血糖上昇現象 (dawn phenomenon) における IRI 消失率の増加<sup>51)62)</sup>、あるいは GH 分泌抑制による IRI 消失率の低下<sup>63)</sup>が知られている。これまでも GH 急性投与実験において末梢血 IRI 濃度が低下したとする報告<sup>5)28)29)</sup>がみられ、その機序について GH 投与による神経性因子あるいは他の内分泌性因子の関与が疑われてきた。GH は直接的な腎糸球体濾過量増加作用を持ち、このために IRI の腎排泄が増加した可能性は否定できないが、今回の成績はこの GH による IRI 濃度の低下および血中 IRI 消失率の増加を説明しようとする。またこれまでの報告における門脈血の IRI 反応と末梢血の IRI 反応の解離の一因である可能性がある。

GH が血糖に与える影響については多くの報告があり、GH の短時間かつ直接的な効果を検討したものに限ると、血糖は不変あるいは減少するというものが多い<sup>4)18)28)29)64)</sup>。今回の成績では GH35 $\mu$ g 臍動脈内投与群では上昇、GH700 $\mu$ g 臍動脈内投与群では逆に低下、GH700 $\mu$ g 大腿静脈内投与群では不変であった。

GH700 および 35 $\mu$ g 膵動脈内投与群では膵静脈血 IRI, IRG, SLI 濃度の変化が数分以内に出現するのに対し、血糖の変化はそれより遅れて認められる。これは GH の投与量により放出される IRI, IRG の比率が異なるため肝および末梢組織に対する糖取込みあるいは糖放出作用が異なって発揮された結果と考えられる。すなわち GH700 $\mu$ g 膵動脈内投与群では IRI の肝糖放出抑制と糖取込み、GH35 $\mu$ g 膵動脈内投与群では IRG の糖放出作用がまさったものと考えることができる。

最後に、近年種々の脳・腸ホルモン (brain-gut peptide) が腸管運動、外分泌腺、血流あるいはリンパ流量などを調節することで栄養素代謝に関与することが明らかになってきた。ソマトスタチンに代表されるこれら脳・腸ホルモンが脳内作用と消化管作用を同時に持つことは生体の栄養保持機構の観点から興味深い。本研究では GH の膵・消化管に対する影響が従来主に検討されてきた糖代謝のみならず、SLI 分泌調節、肝での糖あるいはインスリン取込みの調節を介して広く栄養素代謝全般に関与する可能性を示唆しており、今後のこの分野の発展が期待される。

### 結 論

麻酔イヌを用い GH の膵内分泌および膵外 IRG, SLI 分泌に対する影響を検討し、以下の結果を得た。

1. ヒト GH35 $\mu$ g, 10分間の膵動脈内注入は、血糖の上昇と膵静脈血 IRI, IRG, SLI 濃度の速やかな上昇を引き起こしたが、大腿動脈血 IRI 濃度は一旦上昇した後逆に有意の低下を示した。
2. ヒト GH700 $\mu$ g, 10分間のイヌ膵動脈内注入は、血糖の低下と膵静脈血 IRI, IRG, SLI 濃度の速やかな上昇を惹起した。その増加の程度は GH35 $\mu$ g 膵動脈内注入に比して大きかった。しかしその後大腿動脈血 IRI 濃度はやはり有意の低下を示した。
3. ヒト GH700 $\mu$ g, 10分間の大腿静脈内注入により、血中 GH 濃度は頂値 64ng/ml と生理学的変動の範囲に近い値を示した。この時、血糖は不変で GH35 $\mu$ g 膵動脈内注入とはほぼ同程度の膵静脈血 IRI, IRG, SLI 濃度の増加を示した。大腿動脈血 IRI 濃度は上昇後やはり有意の低下を示した。大腿動脈血 SLI 濃度の増加は他群に比し GH 全身投与群において著明であった。短胃静脈血—動脈血 SLI 濃度較差は有意の上昇を認め、GH の胃底部 D 細胞に対する SLI 分泌刺激作用が示されたことから末梢血中 SLI 濃度の増加は大部分膵外 SLI 分泌の増加によるものであることが示唆された。右胃大網静脈血—動脈血 SLI 濃度較差は変動を示さず胃前庭部 D 細胞は GH に対する反応性を有しないものと考えられた。短胃静脈血および胃大網静脈血—動脈血 IRG 濃度較差はいずれも有意の変動を認めなかった。
4. 膵静脈血流量はヒト GH700, 35 $\mu$ g 膵動脈内投与、700 $\mu$ g 大腿静脈内投与のいずれの群においても有意の変化を認めなかった。
5. 人工膵臓による血糖制御下にヒト GH4 $\mu$ g/kg を20分間で大腿静脈内に注入すると、HII, HIO は不変であったが、肝でのインスリン取込みを表す HIE は対照群に比し増加する傾向をみた。血中 GH 濃度は注入後20分で頂値  $19 \pm 4$ ng/ml でヒトにおける律動的分泌の範囲内であった。

以上の成績は GH の膵・消化管に対する影響が糖代謝のみならず、SLI 分泌調節、肝での糖あるいはインスリン取込みの調

節を介して広く栄養素代謝全般に関与する可能性を示唆しており興味深い。

### 謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜りました恩師竹田亮祐教授に深く謝意を表します。また、終始直接御指導いただきました中林 肇 保健管理センター教授ならびに臼倉教臣博士に深く感謝し、併せて本研究に御協力頂いた金沢大学第二内科第2研究室 B グループの諸先生方、特に伊藤利之、中川 淳、高桑 健、蜂谷春雄、東 滋の各先生に厚く感謝します。

なお、本論文の要旨は、第60回日本内分泌学会総会 (1987年京都)、第8回膵ホルモン研究会 (1987年東京)、第8回国際内分泌学会 (1988年京都)、昭和60, 61, 62, 平成元年度厚生省特定疾患間脳下垂体機能障害調査研究班会議 (1985, 1986, 1987, 1988年東京) にて発表した。

### 文 献

- 1) Rizza, R. A., Mandarino, L. J. & Gerich, J. E.: Effects of growth hormone on insulin action in man. *Diabetes*, 31, 663-669 (1982).
- 2) Press, M., Tamborlane, W. V. & Sherwin, R. S.: Effect of insulin on growth hormone-induced metabolic derangements in diabetes. *Metabolism*, 35, 956-959 (1986).
- 3) Wass, J. A., Cudworth, A. G. & Bottazzo, Z. F.: An assessment of glucose intolerance in acromegaly and its response to medical treatment. *Clin. Endocrinol.*, 12, 53-59 (1980).
- 4) Metcalfe, P., Johnston D. G., Nosadini, R., Ørskov, H. & Alberti, K. G. M. M.: Metabolic effects of acute and prolonged growth hormone excess in normal and insulin deficient man. *Diabetologia*, 20, 123-128 (1981).
- 5) Adamson, U. & Efendic, S.: Insulin-like and diabetogenic effects of human growth hormone in healthy subjects, diabetics and low insulin responders. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 49, 456-461 (1979).
- 6) Pal, B. R., Phillips, P. E., Matthews, D. R. & Dunger, D. B.: Contrasting metabolic effects of continuous and pulsatile growth hormone administration in young adults with type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*, 35, 542-549 (1992).
- 7) Cambell, P. J., Bolli, G. B., Cryer, P. E. & Gerich, J. E.: Pathogenesis of the dawn phenomenon in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.*, 312, 1473-1479 (1985).
- 8) Perriello, G., De Feo P., Torlone, E., Fanelli, C., Santeusario, F., Brunetti, P. & Bolli, G. B.: Nocturnal spikes of growth hormone secretion cause the dawn phenomenon in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus by decreasing hepatic (and extrahepatic) sensitivity to insulin in the absence of insulin waning. *Diabetologia*, 32, 52-59 (1990).
- 9) Arslanian, S., Ohki, Y., Becker, D. J. & Drash, A. L.: Demonstration of a dawn phenomenon in normal adolescents. *Horm. Res.*, 34, 27-32 (1990).
- 10) Boyle P. J., Avogaro, A., Smith, L., Shar, S. D., Cryer, P. E. & Santiago, J. V.: Absence of the dawn phenomenon and abnormal lipolysis in type 1 (insulin-depend-



ent) diabetic patients with chronic growth hormone deficiency. *Diabetologia*, **35**, 372-379 (1992).

11) Farmer, R. W., Pellizzari, E. D., Fabre, L. F. Jr., Nonaka, K., Sugase, T. & Foá, P. P.: Failure of growth hormone to stimulate glucagon secretion. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **138**, 491-493 (1971).

12) Tai, T. Y. & Pek, S.: Direct stimulation by growth hormone of glucagon and insulin release from isolated rat pancreas. *Endocrinology*, **99**, 669-678 (1976).

13) Pek, S., Tai, T. Y., Growther, A. B. & Fajans, S. S.: Glucagon release precedes insulin release in response to common secretagogues. *Diabetes*, **25**, 764-770 (1976).

14) Pierluzzi, J.: Insulin and glucagon levels in young dogs treated with growth hormone. *Excerpta. Med. Int. Cong. Series*, **459**, 220-229 (1979).

15) Sirek, A., Vranic, M., Sirek, O. V., Vigas, M. & Policova, Z.: Effect of growth hormone on acute glucagon and insulin release. *Am. J. Physiol.*, **237**, E107-E112 (1979).

16) 吉光康平: 成長ホルモンの膵インスリン, グルカゴン, ソマトスタチン分泌に与える影響—イヌ上膵十二指腸動脈内注入法による検討—. *十全医会誌*, **91**, 981-991 (1982).

17) Fineberg, S. E. & Merimee, T. J.: Acute metabolic effects of human growth hormone. *Diabetes*, **23**, 499-504 (1974).

18) Adamson, U.: On the diabetogenic effect of growth hormone in man: Effect of growth hormone on glucagon and insulin secretion. *Eur. J. Clin. Invest.*, **11**, 115-119 (1981).

19) Scherwin, R. S., Schulman, C. A., Hendler, R., Walesky, M., Relous, A. & Tamborlene, W.: Effect of growth hormone on oral glucose tolerance and circulating metabolic fuels in man. *Diabetologia*, **24**, 155-155 (1983).

20) MacGorman, L. R., Rizza, R. A. & Gerich, J. E.: Physiological concentrations of growth hormone exerts insulin-like and insulin antagonistic effects on both hepatic and extrahepatic tissues in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **53**, 556-559 (1981).

21) Bratusch-Marrain, P. R., Smith, D. & DeFronzo, R. A.: The effect of growth hormone on glucose metabolism and insulin secretion in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **55**, 973-982 (1982).

22) Larson, B. A., Williams, T. L., Levis, U. J. & VanderLaan, W. P.: Insulin secretion from pancreatic islets: effect of growth hormone and related proteins. *Diabetologia*, **15**, 129-132 (1978).

23) Daughaday, W. H. & Kipnis, D. M.: The growth-promoting and anti-insulin actions of somatotropin. *Recent Prog. Horm. Res.*, **22**, 49-99 (1966).

24) Frohman, L. A., MacGillivray, M. H. & Aceto, T. Jr.: Acute effects of human growth hormone on insulin secretion and glucose utilization in normal and growth hormone deficient subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **27**, 561-567 (1967).

25) Hartman, M. L., Veldhuis, J. D. & Vance, M. L.: Somatotropin pulse frequency and basal concentrations are

increased in acromegaly and are reduced by successful therapy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **70**, 1375-1384 (1990).

26) Bevan, J. S. & Scanlon, M. F.: Regulation of the hypothalamus and pituitary. In A. B. Grossman (ed.), *Clinical Endocrinology*, 1st ed., p74-96, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1992.

27) Møller, N., Jørgensen, J. O. L., Schmitz, O., Møller, J., Christiansen, J. S., Alberti, K. G. M. M. & Orskov, H.: Effects of a growth hormone pulse on total and forearm substrate fluxes in humans. *Am. J. Physiol.*, **258**, E86-E91 (1990).

28) Busch-Sørensen, M., Holst, J. J. & Lyngsø, J.: Short time effects of growth hormone on glucose metabolism and insulin and glucagon secretion in normal man. *J. Endocrinol. Invest.*, **14**, 25-30 (1991).

29) Adamson, U. & Cerasi, E.: Acute suppressive effect of human growth hormone on basal insulin secretion in man. *Acta Endocrinologica*, **79**, 474-482 (1975).

30) Polak, J. M., Pearce, A. G. E., Crimelius, L., Bloom, S. R. & Arimura, A.: Growth-hormone release-inhibiting hormone in gastrointestinal and pancreatic D cell. *Lancet*, **31**, 1220-1222 (1975).

31) Reichlin, S.: Somatostatin. *N. Engl. J. Med.*, **309**, 1495-1501 (first of two parts), 1556-1563 (second of two parts) (1983).

32) Schubert, M. L., Edwards, N. F., Arimura, A. & Makhlof, G. M.: Paracrine regulation of gastric acid secretion by fundic somatostatin. *Am. J. Physiol.*, **15**, G485-G490 (1987).

33) Wahren, J. & Felig, P.: Influence of somatostatin on carbohydrate disposal and absorption in diabetes mellitus. *Lancet*, **2**, 1213-1216 (1976).

34) Schusdziarra, V., Harris, V., Arimura, A. & Unger, R. H.: Evidence for a role of splanchnic somatostatin in the homeostasis of ingested nutrients. *Endocrinology*, **104**, 1705-1708 (1979).

35) Nakabayashi, H., Sagara, H., Usukura, N., Yoshimitsu, K., Imamura, T., Seta, T., Yanase, E., Kawato, M., Hiraiwa, Y., Sakato, S. & Takeda, R.: Effect of somatostatin on the flow rate and triglyceride levels of thoracic duct lymph in normal and vagotomized dogs. *Diabetes*, **30**, 440-445 (1981).

36) Nakabayashi, H., Nijima, A., Kurata, Y., Usukura, N. & Takeda, R.: Somatostatin-sensitive neural system in the liver. *Neurosci. Lett.*, **67**, 78-81 (1986).

37) Nakabayashi, H., Nijima, A., Kurata, Y., Jiang, Z. Y., Usukura, N. & Takeda, R.: Pancreatic vagal nerve is receptive to somatostatin in rats. *Am. J. Physiol.*, **253**, R200-R203 (1987).

38) Schusdziarra, V., Harris, V., Conlon, J. M. & Arimura, A.: Pancreatic and gastric somatostatin release in responses to intragastric and intraduodenal nutrients and HCl in the dog. *J. Clin. Invest.*, **62**, 509-518 (1978).

39) Kawai K. & Unger, R. H.: Opposing actions of

- glucagon and insulin on splanchnic D cell function. *J. Clin. Invest.*, **71**, 721-725 (1983).
- 40) Koop, H. & Arnold, R.: Control of rat gastric somatostatin released by  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA). *Horm. Metabol. Res.*, **18**, 94-97 (1986).
- 41) Olesen, M., Holst, J. J., Sottimano, C. & Nielsen, O. V.: Autonomic nervous control of fundic secretion of somatostatin and antral secretion of gastrin and somatostatin in pigs. *Digestion*, **36**, 24-35 (1987).
- 42) Berelowitz, M., Firestone, S. I. & Frohman, L. A.: Effect of growth hormone excess and deficiency on hypothalamic somatostatin content and release and on tissue somatostatin distribution. *Endocrinology*, **109**, 714-719 (1981).
- 43) Kanazawa, Y., Kuzuya, T., Ide, T. & Kosaka, K.: Plasma insulin responses to glucose in femoral, hepatic and pancreatic veins in dogs. *Am. J. Physiol.*, **211**, 442-448 (1966).
- 44) 中林 肇・吉光康平・岸谷正雄・上田 操・川東正範・白倉教臣・竹田亮祐: Somatostatin の膵内分泌に及ぼす影響—イヌ上膵十二指腸動脈内注入法による検討—. *日本内分泌学会雑誌*, **52**, 218-226 (1976).
- 45) Herbert, V., Lau, K. S., Gottlieb, C. W. & Bleicher, S. J.: Coated charcoal immunoassay of insulin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **25**, 1375-1384 (1965).
- 46) Faloona, G. R. & Unger, R. H.: Glucagon. *In* B. M. Jaff & H. R. Behman (eds.), *Methods of Hormone Radioimmunoassay*, 1st ed., p317-330, Academic Press, New York, 1974.
- 47) Nakabayashi, H., Dobbs, R. E. & Unger, R. H.: The role of glucagon deficiency in the Houssay phenomenon of dogs. *J. Clin. Invest.*, **61**, 1355-1362 (1978).
- 48) Conlon, J. M., McCulloch, A. J. & Alberti, K. G. M. M.: Circulating somatostatin concentrations in healthy and non-insulin-dependent (type II) diabetic subjects. *Diabetes*, **32**, 723-729, (1983).
- 49) Fryklund, L.: Production of authentic recombinant somatostatin. *Acta Paediatr. Scand. Suppl.*, **331**, 5-8 (1987).
- 50) Nakabayashi, H., Dobbs, R. E. & Unger, R. H.: The role of glucagon deficiency in the Houssay phenomenon of dogs. *J. Clin. Invest.*, **61**, 1355-1362 (1978).
- 51) Hindmarsh, P. C., Matthews, D. R. & Brain, C. E.: The half-life of exogenous growth hormone after suppression of endogenous growth hormone secretion with somatostatin. *Clin. Endocrinol.*, **30**, 443-450 (1989).
- 52) Copeland, K. C., Underwood, L. E. & VanWyk, J. J.: Induction of immunoreactive somatomedin-C in human serum by growth hormone: Dose response relationships and effect on chromatographic profiles. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **50**, 690-697 (1980).
- 53) Blake W. L. & Clarke, S. D.: Growth hormone acutely increases glucose output by hepatocytes isolated from hypophysectomized rats. *J. Endocrinol.*, **122**, 457-464 (1989).
- 54) Dunbar, J. C., Schultz, S., Houser, F. & Walker, J.: Regulation of the hepatic response to glucagon: role of insulin, growth hormone and cortisol. *Horm. Res.*, **31**, 244-249 (1989).
- 55) Mendelsohn, L. G.: Growth hormone receptors. *Life Sci.*, **43**, 1-5 (1988).
- 56) 野沢真澄・藤谷 浩・千葉 勉・田港朝彦・黒川 純・丹羽正幸・戸塚貴雅・後藤由夫: 脾移植による糖尿病ラットの胃ソマトスタチン含有 D 細胞の変化に関する免疫組織学的検討. *ホルモンと臨床*, **31**, 455-457 (1983).
- 57) Nomiyama, S., Nisioka, B., Ishii, T., Nakamura, K. & Majima, S.: Comparative study of G- and D-cell population in the dog stomach. *Jpn. J. Surg.*, **11**, 346-352 (1981).
- 58) Helmstaedter, V., Feurle, G. E. & Forssmann, W. G.: Relationship of glucagon-somatostatin and gastrin-somatostatin cells in the stomach of the monkey. *Cell Tiss. Res.*, **177**, 29-46 (1977).
- 59) Weyrauch, K. D., Blasher, S. & Perschbacher, J.: Somatostatin cells in the gastric mucosa of small ruminants. *Acta Anat.*, **128**, 188-193 (1987).
- 60) Hacker, G., Pohlhammer, K., Breitfuss, A. & Adam, H.: Somatostatin-immunoreactive cells in the gastro-entero-pancreatic endocrine system of *Xenopus laevis*. *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.*, **97**, 929-940 (1983).
- 61) Pklak, J. M. & Gloom S. R., MacCrossan, M., Timson, C. M. & Arimura, A.: Studies on gastric D-cell pathology. *Gut*, **17**, 400-401 (1976).
- 62) Dux, S., White, N. H., Skor, D. A. & Santiago, J. V.: Insulin clearance contributes to the variability of nocturnal insulin requirement in insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes*, **35**, 1260-1265 (1985).
- 63) Atinea J. A., Greagh, F., Page, M., Owens, D. R., Scanlon, M. F. & Peters J. R.: Early-morning hyperglycemia in IDDM. *Diabetes Care*, **12**, 443-448 (1989).
- 64) Møller, N., Jorgensen, J. O. L., Alberti, K. G. M. M., Flyvbjerg, A. & Schmitz, O.: Short-term effect of growth hormone on fuel oxidation and regional substrate metabolism in normal man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **70**, 1179-1186 (1990).

**Effect of Human Growth Hormone on Secretion of Pancreatic Hormones and Gut Somatostatin, and on Hepatic Insulin Extraction in Dogs** Fuyuki, Minagawa Department of Internal Medicine (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Jusen Med Soc., **102**, 958—968 (1993)

**Key words** glucagon, growth hormone, hepatic insulin extraction, insulin, somatostatin

#### Abstract

The aim of the present study is to determine if growth hormone (GH) stimulates *in vivo* secretions of pancreatic hormones, i.e., insulin (IRI), glucagon (IRG) and somatostatin (SLI), and of extrapancreatic SLI (particularly from the stomach), and to evaluate effect of GH on hepatic insulin extraction. Recombinant human GH (hGH) was infused into the pancreatic artery (PA) (700 or 35  $\mu$ g/10 min) or the femoral vein (700  $\mu$ g/10 min) in anesthetized dogs. The infusion of 35  $\mu$ g hGH into the PA significantly increased blood glucose levels from 100 $\pm$ 3 to 104 $\pm$ 3 mg/dl, and significantly raised IRI, IRG, and SLI levels in the pancreatic vein (PV) within 5 min (1.4-, 1.4- and 1.5-fold, respectively), whereas IRI levels in the femoral artery decreased significantly (after 15 min). Infusion of 700  $\mu$ g hGH into the PA significantly decreased blood glucose level from 105 $\pm$ 4 to 101 $\pm$ 4 mg/dl, and evoked significant rises of IRI, IRG, and SLI concentrations in the PV within five min (2-, 2- and 1.4-fold, respectively). IRI levels in the femoral artery decreased significantly (after 7.5 min). Infusion of 700  $\mu$ g hGH into the femoral vein induced prompt and significant rises of IRI, IRG and SLI levels in the PV, accompanying no significant changes in blood glucose levels. The infusion induced a serum GH level of 64 $\pm$ 3 ng/ml at 10 min, which met GH levels seen in the nocturnal GH surge of adolescence. Pancreatic venous blood flow did not change in any of the three infusion groups. The largest incremental changes in IRI, IRG, and SLI levels in the PV were observed with the intrapancreatic 700  $\mu$ g GH infusion, but that of SLI in the FA was seen with the systemic infusion of 700  $\mu$ g hGH. Transgastric gradient of SLI concentrations across the gastric fundus increased significantly and the rise lasted for 20 min after the systemic infusion, but the gradient across the gastric antrum did not change. The systemic infusion induced no transgastric gradients of IRG levels. Systemic infusion of hGH (4  $\mu$ g/kg/20 min) in dogs which were deprived of endogenous insulin by pancreatic vascular ligations, infused intraportally with exogenous insulin of 400  $\mu$ U/kg/min, and clamped glucose level by artificial pancreas, increased hepatic insulin extraction (from 47% to 61%), contrasting with the extraction changes with control saline infusion (from 53% to 48%). These results indicate that hGH stimulates not only pancreatic IRI, IRG and SLI secretions but also SLI release from the fundic stomach, suggesting a unique role of GH in nutrient homeostasis.